

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Amilothermofilik Dari Sumber Air Panas Sungai Medang

Isolation and Characterization of Amylothermophilic Bacteria from Sungai Medang Hotspring

Rahmadani Eka Pitri^{*}), Anthoni Agustien, dan Fuji Astuti Febria

Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Andalas

^{*}Koresponden : rahmadani66@gmail.com

Abstract

The research on isolation and characterization of amylothermophilic bacteria has been done in Research Laboratory of Microbiology, Biology Department, Mathematics and Natural Sciences Faculty, Andalas University, Padang. The aimed to obtain amylothermophilic isolate and describe their characteristic. The study used purposive sampling method and descriptive analysis. The study results obtained four amylothermophilic isolates with amylolytic index ranged from 2.23 until 3.51 were different macroscopic characters, rod shape, motile and produce catalase enzyme, three isolates were Gram positive and spore forming, one isolate was Gram negative.

Keyword: Isolation, characterization, amylothermophilic

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang dilalui oleh sabuk vulkanik (*volcanic belt*) yang didalamnya terdapat sekurang-kurangnya 117 pusat gunung berapi yang masih aktif dan memiliki sumber daya panas bumi pada 252 lokasi di 26 provinsi (Warta Pertamina, 2010). Salah satu kajian biologis yang dapat dilakukan pada sumber air panas yaitu mengenai bakteri termofilik.

Bakteri termofilik menghasilkan enzim yang bersifat termostabil sangat dibutuhkan diberbagai bidang industri seperti industri pertanian, makanan, detergent, hingga farmakologi. Salah satu enzim yang dihasilkan bakteri termofilik yaitu Enzim amilase (Haki and Rakshit, 2003). Enzim amilase telah lama menggantikan peran asam dalam pengolahan industri pati karena lebih menguntungkan. Mengingat manfaat amilase yang luas, maka diperlukan studi mengenai bakteri termofilik penghasil enzim tersebut.

Langkah awal dari rangkaian studi eksplorasi dan pemanfaatan bakteri termofilik tersebut adalah melakukan

identifikasi bakteri. Identifikasi dapat dilakukan secara konvensional yaitu dengan mengamati karakterisasi bakteri melalui karakteristik sifat biokimia, makroskopis bakteri dan mikroskopis bakteri.

Sumber air panas Sungai Medang merupakan salah satu sumber air panas yang terdapat di Jambi yang terletak di Kecamatan Air Hangat Timur, Sungai Penuh, Jambi tepatnya berada pada posisi geografis 02°00'35,7" LU dan 101°24'54,7" BT, memiliki suhu sekitar 45°C-88°C dan pH air 8,45-8,71 yang diduga memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi. Wahyuna (2012), telah mengisolasi bakteri termofilik penghasil protease dari sumber air panas Sungai Medang, dan didapatkan 39 isolat bakteri. Untuk itu, perlu dilakukan isolasi dan karakterisasi terhadap bakteri amilothermofilik dari sumber air panas Sungai Medang, Sungai Penuh, Jambi.

Metodologi Penelitian

Penelitian ini menggunakan metoda deskriptif. Tahapan penelitian meliputi tahap isolasi bakteri dari 5 kolam sumber air panas Sungai Medang, selanjutnya

dilakukan penapisan bakteri amilolitik. Terakhir dilakukan karakterisasi secara parsial terhadap isolat bakteri amilotermofilik.

Isolasi Bakteri termofilik

Sampel air panas yang terdapat didalam botol dihomogenkan, kemudian diambil 1 ml, dipipetkan kedalam cawan petri berisi medium NA yang masih cair lalu diinkubasi pada suhu 50°C selama 24–48 jam. Koloni–koloni bakteri yang tumbuh diinokulasikan kembali ke cawan petri steril yang berisi medium NA dengan cara penggoresan dengan metode kuadran, selanjutnya di inkubasi pada suhu 50°C selama 24–48 jam sampai terlihat koloni–koloni tunggal yang tumbuh (Atlas, 1997).

Penapisan Bakteri Amilotermofilik

Penapisan amilase dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada media seleksi dengan komposisi NA yang ditambah 2 % pati. Diinkubasi pada suhu 50 °C selama 24 jam. Setelah bakteri tumbuh ditetesi lugol pada cawan petri. Diukur diameter zona bening serta koloni yang terbentuk dan selanjutnya ditentukan Indeks Amilolitiknya (IA) Indeks amilolitik dihitung mengacu pada indeks proteolitik yang dilakukan Agustien (2010) yaitu:

$$IA = \frac{\text{diameter zona bening} - \text{diameter koloni}}{\text{Diameter koloni}}$$

Karakterisasi Bakteri Amilotermofilik

Karakterisasi bakteri amilotermofilik dilakukan melalui pengamatan makroskopis yaitu pengamatan terhadap bentuk koloni dari bakteri, tepian koloni, elevasi, tekstur dan pigmentasi koloni. Pengamatan mikroskopis terhadap bentuk sel bakteri, reaksi terhadap pewarnaan Gram, pewarnaan spora, motilitas sel dan dilanjutkan dengan uji enzim katalase.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil isolasi bakteri termofilik ditemukan 28 isolat bakteri termofilik dari sumber air panas Sungai Medang, Sungai Penuh, Jambi (Tabel 1)

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri termofilik dari sumber Air panas Sungai Medang.

| No. | Lokasi dan Kondisi Kolam | Σ Isolat Bakteri |
|---------------------|--------------------------|------------------|
| 1. | MI (88°C ; pH 8,45*) | 5 |
| 2. | MII (77°C ; pH 8,57*) | 7 |
| 3. | MIII(45°C ; pH 8,54*) | 5 |
| 4. | MIV(83°C ; pH 8,62*) | 6 |
| 5. | MV (86°C ; pH 8,71*) | 5 |
| Jumlah total isolat | | 28 |

Keterangan :

Σ: jumlah, MI: Medang pada kolam pertama, MII: Medang pada kolam kedua, MIII: Medang pada kolam ketiga, MIV: Medang pada kolam keempat., MV: Medang pada kolam kelima, (*): (Wahyuna, 2012).

Pada tiap kolam didapatkan isolat dengan jumlah yang berbeda-beda. Adanya perbedaan jumlah isolat yang didapatkan pada masing-masing kolam dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang mendukung kehidupan bakteri. Faktor biotik yang terdapat pada lokasi pengambilan sampel diantaranya dedaunan yang gugur, rerumputan, lumut dan sumber organik lain menjadi sumber energi bagi mikroorganisme.

Salah satu faktor abiotik yang berpengaruh pada kehidupan bakteri yaitu suhu dan pH. Bakteri yang berhasil diisolasi berasal dari sumber air panas memiliki rentang suhu 45°C-88°C. Madigan *et al.* (2000) menyatakan bahwa mikroorganisme yang tumbuh optimal pada suhu diatas suhu 45°C merupakan kelompok bakteri termofilik. pH air kolam berkisar 8,45 - 8,71 yang bersifat basa. Sari (2012) menyatakan sumber air panas yang bersifat basa memiliki kandungan mineral yang tinggi yang memungkinkan mikroorganisme termofilik untuk bertahan hidup.

Kawasan yang memiliki derajat keasaman (pH), komposisi gas dan mineral, reaksi oksidasi/reduksi serta nutrisi yang bervariasi dapat menyebabkan hadirnya keanekaragaman genetik dan metabolisme setiap mikroorganisme yang hidup didalamnya (Amend and Shock, 2001).

Hasil penapisan terhadap 28 isolat bakteri didapatkan 4 isolat bakteri termofilik yang bersifat amilolitik yaitu isolat MII-12 dengan indeks amilolitik

tertinggi 3,51, Isolat MII-9 dengan indeks amilolitik 2,75, isolat MIV-23 dengan indeks amilolitik 2,39 dan isolat MV-24

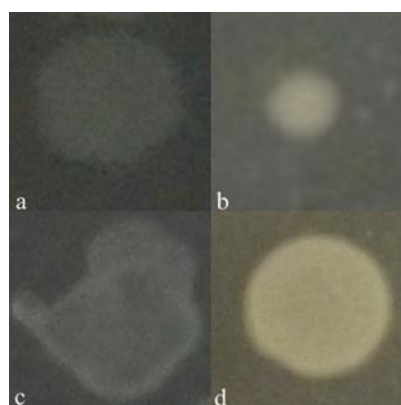
merupakan isolat yang memiliki indeks amilolitik terendah yaitu 2,23. Dari keempat isolat tersebut memiliki indeks amilolitik yang berbeda yang disebabkan karena kemampuan setiap isolat dalam menghidrolisis pati berbeda-beda sehingga mempengaruhi besar kecilnya zona bening yang terbentuk. Menurut Agustien (2005), adanya perbedaan zona bening pada masing-masing isolat disebabkan oleh jumlah dan aktifitas enzim dari masing-masing isolat yang disekresikan pada medium berbeda. Aktifitas enzim tersebut ditentukan oleh konsentrasi enzim, konformasi enzim, urutan asam amino pembentuk enzim dan macam asam amino pembentuk enzim.

Aktifitas enzim amilolitik secara kualitatif dapat diamati dari terbentuknya zona bening (*clear zone*) pada sekeliling koloni bakteri yang tumbuh pada media. Hal ini dapat dilihat ketika bakteri ditetesi lugol, daerah disekitar bakteri tidak dapat diwarnai oleh lugol. Menurut Arzita dan Agustien (2013), Adanya zona bening mengindikasikan bahwa bakteri menghasilkan amilase ekstraseluler. Zona bening yang terbentuk adalah akibat dari hidrolisis amilum oleh amilase yang dihasilkan bakteri menjadi monosakarida atau disakarida dan oligosakarida.

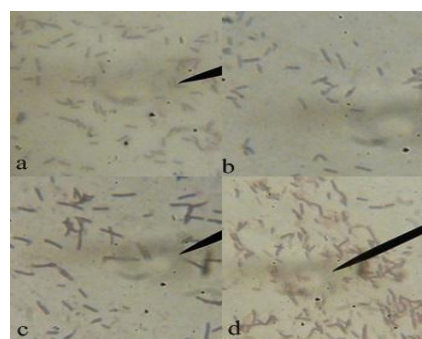
Karakterisasi bakteri dilakukan pada keempat isolat bakteri amilotermofilik yaitu isolat MII-9, MII-12, MIV-23 dan MV-24 yang memiliki bentuk koloni yang berbeda-beda. Keempat isolat berbentuk basil, bersifat motil dan menghasilkan enzim katalase. Isolat MII-9, MII-12, MIV-23 merupakan bakteri Gram positif dan membentuk endospora sedangkan isolat MV-24 merupakan Gram negatif.

Tabel 2. Karakterisasi Makroskopis, Mikroskopis, dan Uji Katalase Isolat Bakteri Amilotermofilik

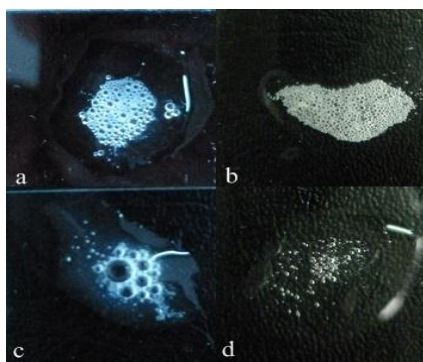
| No | Pengamatan | Kode Isolat | | | |
|----|--------------|-------------|---------|---------------|---------|
| | | III-9 | III-12 | IV-23 | V-24 |
| 1 | Makroskopis | | | | |
| | Bentuk | Bundar | Bundar | Tak Beraturan | Bundar |
| | Koloni | | | | |
| | Tepian | Berombak | Licin | Licin | Licin |
| | Elevasi | Timbul | Timbul | Datar | Datar |
| 2 | Mikroskopis | | | | |
| | Bentuk Sel | Basil | Basil | Basil | Basil |
| | Pewarnaan | Positif | Positif | Positif | Negatif |
| | Gram | | | | |
| | Endospora | Positif | Positif | Positif | Negatif |
| 3 | Motilitas | Motil | Motil | Motil | Motil |
| | Uji Katalase | Positif | Positif | Positif | Positif |



Gambar 1. Koloni bakteri amilotermofilik setelah 48 jam inokulasi pada medium NA; a. isolat MII-9, b. isolat MII-12, c. isolat MIV-23 dan d. isolat MV-24.



Gambar 2. Mikroskopis bakteri amilo-termofilik setelah diwarnai dengan pewarna Gram; a. isolat MII-9, b. isolat MII-12, c. isolat MIV-23 dan d. isolat MV-24.



Gambar 3. Hasil uji Katalase Bakteri Amilotermofilik; a. isolat MII-9, b. isolat MII-12, c. isolat MIV-23 dan d. isolat MV-24.

Kesimpulan

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

Ditemukan 28 isolat bakteri termofilik dari sumber air panas Sungai Medang, Sungai Penuh, Jambi. Diperoleh 4 isolat bakteri yang bersifat amilo- termofilik yaitu isolat MII-9, isolate MII-12, isolat MIV-23 dan isolat MV-24 dengan indeks amilolitik berkisar antara 2.23 - 3.51 dan karakterisasi isolat bakteri amilotermofilik memiliki morfologi makroskopis yang berbeda-beda, sel bakteri berbentuk basil, merupakan bakteri Gram positif dan Gram negatif, membentuk endospora, bersifat motil dan menghasilkan enzim katalase.

Ucapan Terimakasih

Terima kasih penulis ucapkan kepada Dr. Periadnadi, Dr. Djong Hon Tjong, Dr. Nurmiati dan Dr. Nasril Nasir yang telah memberikan bimbingan, saran dan kritik pada penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Agustien, A. 2005. *Isolasi dan Karakterisasi Enzim Amilase Termotabil dari Bakteri Isolat Sumbar*. Project Report. Lembaga Penelitian Universitas Andalas. (Unpublished).
- Agustien, A. 2010. *Protease Bakteri Termofilik*. UNPAD PRESS. Bandung.
- Amend, J. P and E. L. Shock. 2001. Energetics of overall metabolic reactions of thermophilic and hyperthermophilic Archaea and Bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 25: 175-243.
- Arzita dan A. Agustien. 2013. Potensi *Bacillus* sp. PA-05 Termofilik Obligat Untuk Produksi Amilase. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung. P: 85-89.
- Atlas, R. M. and Ronald, 1997. *Principles of Microbiology*, 2nd Ed., WBC Mc Grow-Hill Book. New York.
- Haki, G. D. and S. K. Rakshit. 2003. Developments In Industrially Important thermostable Enzymes A Review. *Bioresource Technology* 89: 17-34.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko and J. Parker. 2000 . *Brock's Biology of Microorganisms*. 9th Ed. Prentice Hall Internasional, Inc. New Jersey.
- Sari, U. M. 2012. Penapisan dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Termofilik Sumber Air Panas Sungai Medang, Kerinci, Jambi. [Skripsi]. Padang. Universitas Andalas.
- Wahyuna, D. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Termo-Proteolitik dari Sumber Air panas Sungai Medang. [Skripsi]. Padang. Universitas Andalas.
- Warta Pertamina. 2010. *Energi Geothermal*. Pertamina. Jakarta